

การผลิตสาร biosurfactant โดยแบคทีเรียที่แยกจากดินและผลต่อการดูดซับของน้ำมันในดิน

โดย

นายชาคริต วงศ์หอม

ธันวาคม 2545

ประธานกรรมการที่ปรึกษา: อาจารย์ดร.รพีพร ชื่นบาล

ภาควิชา/คณะ: ภาควิชาทรัพยากรดินและสิ่งแวดล้อม คณะผลิตกรรมการเกษตร

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างดิน 18 ตัวอย่าง ในเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้จำนวนทั้งหมด 206 ไอโซเลต เมื่อนำเชื้อทั้งหมดมาทดสอบการผลิต biosurfactant เบื้องต้นจากคุณสมบัติการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงบน blood agar พบว่า มี 26 ไอโซเลต ที่มีคุณสมบัตินี้ จึงนำเชืวดังกล่าวไปเลี้ยงในอาหาร mineral salt medium ซึ่งมีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ กลูโคส กลีเซอรอล และ เฮกซะเดคเคน หลังจากนั้นนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาทดสอบการทำให้เกิด emulsion โดยวิธี xylene emulsification assay ซึ่งเป็นอีกคุณสมบัติหนึ่งที่สามารถใช้ในการคัดเลือกเชื้อที่ผลิต biosurfactant จากขั้นตอนนี้มีเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำให้เกิด emulsion คือ BS₁₁B₄, BS₁₂B₇ และ BS₁₄B₁ เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ส่วน BS₁₆B₁ จะเกิด emulsion ได้ดีในอาหารที่มีกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน และ BS₁₆B₁ จะเกิดได้ดีในอาหารที่มีเฮกซะเดคเคนเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อไปวัดค่าแรงตึงผิวพบว่า แบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลต สามารถลดแรงตึงผิวของอาหารลงได้ในแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน คือ กลูโคส, กลีเซอรอล และเฮกซะเดคเคน เมื่อนำเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลตมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญกับการผลิต biosurfactant โดยมีแหล่งคาร์บอนที่ต่างกันคือ BS₁₁B₄, BS₁₂B₇ และ BS₁₄B₁ ในอาหารที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ส่วน BS₁₆B₁ ใช้กลีเซอรอล และ BS₁₆B₁ ใช้เฮกซะเดคเคนเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลตมีการปลดปล่อย biosurfactant ได้ดีในช่วงการเจริญก่อนระยะ stationary phase เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี คือ โปรตีน น้ำตาลทั้งหมด และฟอสฟอรัส พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต BS₁₁B₄, BS₁₂B₇, BS₁₆B₁ และ BS₁₆B₁ มีส่วนประกอบของน้ำตาลทั้งหมดในปริมาณสูง และส่วนไอโซเลต BS₁₄B₁ จะประกอบด้วยโปรตีนในปริมาณสูง การทดสอบผลของ biosurfactant ต่อการดูดซับน้ำมันในดินที่มีระดับปริมาณอินทรีย์วัตถุต่างกันพบว่าน้ำเลี้ยงที่มี biosurfactant ซึ่งถูกผลิตโดยแบคทีเรีย BS₁₄B₁ ในช่วงระยะการเพาะเลี้ยง 36 ชั่วโมง มีผลต่อการดูดซับน้ำมันมากที่สุด กล่าวคือ สามารถชะน้ำมันออกจากดินได้ดีที่สุด เมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย ดังกล่าวมาจำแนกชนิดพบว่าอยู่ในจีนัส *Serratia*

BIOSURFACTANT PRODUCTION BY BACTERIA ISOLATED FROM SOIL
AND ITS EFFECT ON PARTITION OF OIL INTO SOIL

BY

CHARKRIT WANGKAORM

DECEMBER 2002

Chairman: Dr. Tapan Cheunban

Department: Soil Resources and Environment

Faculty: Agricultural Production

This study was conducted to isolate bacteria from eighteen soil samples in Chiang Mai and Lampun Provinces. The results showed that two hundred-six bacterial isolates were obtained from the soil samples. Blood haemolysis was then used as an initial selection criterion for the primary isolation of biosurfactant-producing bacteria which yielded twenty-six bacteria isolates. These isolates were later cultured in mineral salt medium containing three different carbon source (glucose, glycerol and hexadecane) and then screened for emulsion through xylene emulsification assay. The results found three isolates (BS₁₁B₄, BS₁₂B₇ and BS₁₄B₁) to have a high emulsification activity in glucose, while BS₁₆B₁ had a high emulsification activity in glycerol and BS₁₈B₁ had a high emulsification activity in hexadecane. All five isolates can reduce the surface tension of mineral salt medium containing three different carbon sources. When studying the relationship between growth and biomass production using glucose in BS₁₁B₄, BS₁₂B₇ and BS₁₄B₁ while BS₁₆B₁ using glycerol and BS₁₈B₁ using hexadecane as carbon sources, all five isolates released biosurfactant well during early stationary phase. BS₁₁B₄, BS₁₂B₇, BS₁₆B₁ and BS₁₈B₁ produced biosurfactant composed of total sugar while BS₁₄B₁ produced biosurfactant composed of protein, upon analysis of the chemical components of culture broth. The experiments on oil absorption of biosurfactant in soil with different organic matter showed that the culture broth containing biosurfactant, produced by bacteria BS₁₄B₁ during 36-hour a culture period, mostly affected oil absorption, i.e. oil was best removed from the soil by biosurfactant. This bacterial isolate, BS₁₄B₁ was identified to belong to the genus *Serratia*.